

## Pemaskulinan belut (*Monopterus albus* Zuiew 1793) dengan induksi penghambat aromatase untuk penyediaan calon induk jantan

[Masculinization asian swamp eel (*Monopterus albus* Zuiew 1793) with induction of aromatase inhibitors for the provision of male brood stock]

Hafif Syahputra<sup>1,✉</sup>, Agus Oman Sudrajat<sup>2</sup>, Dinar Tri Soelistyowati<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Ilmu Akuakultur, Sekolah Pascasarjana IPB  
Jln. Agatis, Kampus IPB Dramaga 16680

<sup>2</sup>Departemen Budi Daya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB  
Jln. Agatis, Kampus IPB Dramaga 16680

Diterima: 15 Februari 2014; Disetujui: 3 Juni 2014

### Abstrak

Aromatase adalah enzim yang berperan mengubah testosteron dalam proses biosintesis hormon estrogen. Penghambatan aromatase dapat menghentikan pembentukan estradiol pada pemaskulinan ikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian hormon penghambat aromatase melalui penyuntikan untuk pemaskulinan belut (*Monopterus albus* Zuiew 1793). Belut yang digunakan berukuran  $24 \pm 2$  cm dengan berat 6-14 g diberi perlakuan penyuntikan hormon penghambat aromatase yaitu *imidazole* dengan dosis 0,001; 0,01; 0,1 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh sekali tiap minggu sebanyak empat kali dan diamati gonadnya setiap dua minggu secara histologi serta dibandingkan dengan kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan hormon *imidazole* 0,1 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh menghasilkan 40% individu jantan pada minggu ke-6, sedangkan pada dosis yang lebih rendah menghasilkan 50-85,72% individu interseks, dan pada kontrol 100% betina. Konsentrasi testosteron plasma meningkat sejalan dengan peningkatan dosis *imidazol*. Konsentrasi testosteron plasma yang tertinggi mencapai 1,8 ng mL<sup>-1</sup> pada perlakuan 0,1 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh atau meningkat tiga kali lipat dibandingkan dengan kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa hormon penghambat aromatase menyebabkan ekspresi gen aromatase tertekan sehingga konsentrasi estradiol plasma menurun dan konsentrasi testosteron meningkat.

Kata penting: belut, estradiol, pemaskulinan, penghambat aromatase, testosteron

### Abstract

Aromatase is an enzyme that functions to change testosterone in the biosynthesis of estrogen. Inhibition of aromatase can stop the synthesis of estradiol in masculinization of fish. This study aimed to evaluate the effects of aromatase inhibitors by injection for masculinization of Asian swamp eel (*Monopterus albus* Zuiew 1793). The samples of swamp eel consisted of individuals with  $24 \pm 2$  cm length and 6-14 grams/individual weight. The treatments of aromatase inhibitor using imidazole were conducted by injection at doses of 0.001; 0.01; 0.1 mg kg<sup>-1</sup> once time a week for four times and the gonad were observed using histology method. The results showed that the injection of imidazole 0.1 mg kg<sup>-1</sup> week produced 40% males, while at the less doses were 50-85.72% intersexes, whereas in control was 100% females. The concentration of plasma testosterone inclined when the doses of imidazole increased. The highest concentration of testosterone reached to 1.8 ng mL<sup>-1</sup> at dose of aromatase inhibitor 0.1 mg kg<sup>-1</sup> or increased three times compared with the control. These results indicated that aromatase inhibitor suppressed the aromatase gene expression that leads the decline of estradiol and increased testosterone.

Keywords: Asian swamp eel, aromatase inhibitor, testosterone, masculinization

### Pendahuluan

Belut (*Monopterus albus*) merupakan salah satu spesies belut asli perairan Indonesia yang memiliki prospek pasar cukup baik. Dua spesies belut lainnya adalah belut rawa (*Synbranchus bengalensis*) dan belut laut (*Macrotrema calligans* Cant). Pada tahun 2011 ekspor belut hidup

mencapai 2.068.680 kg atau meningkat 400% dibanding tahun 2007 (Direktur Jenderal PPHP 2012). Tingginya permintaan belut dipenuhi dari hasil penangkapan benih dari alam yang kemudian dibesarkan pada media lumpur. Penangkapan yang terjadi secara terus menerus di alam akan memberikan dampak negatif pada ketersediaan belut, baik benih maupun induk jantan dan betina. Akibat penangkapan yang terjadi secara te-

✉ Penulis korespondensi  
Alamat surel: hafifxavi@gmail.com

rus menerus jumlah dan ukuran belut yang ditangkap semakin kecil (Bahri 2000).

Proses pemijahan baik di alam maupun buatan sulit terjadi karena belut yang berukuran kecil adalah betina. Belut tergolong ikan hermafrodit protogini yaitu pada awal hidup belut berjenis kelamin betina kemudian melalui fase interseks akan berubah menjadi jantan. Beberapa penelitian (Chan & Phillips 1969 dan Affandi *et al.* 2003) melaporkan bahwa belut memulai pergantian kelamin ke arah jantan dimulai pada ukuran 30-45 cm. Dalam upaya pembenihan belut melalui budi daya diperlukan kepastian calon induk berjenis kelamin jantan agar proses reproduksi dapat terjadi. Pemaskulinan merupakan solusi yang dapat dilakukan untuk mendapatkan kepastian kelamin jantan dan betina belut pada ukuran yang sama.

Pada ikan hermafrodit, peranan enzim aromatase mengatur pengarahannya kelamin betina dan mempertahankan ovarium. Enzim aromatase terlibat pada pergantian kelamin ikan karena mengendalikan proses biosintesis hormon testosteron menjadi estradiol selama masa pergantian kelamin. Peningkatan estradiol akan mengarahkan fenotip kelamin betina, dan sebaliknya jika aktivitas aromatase menurun maka terjadi pemaskulinan. Menurut Zhang *et al.* (2008), terdapat korelasi antara aktivitas enzim aromatase dengan struktur gonad betina pada belut yang memiliki aktivitas enzim aromatase tinggi yaitu berjenis kelamin betina, sebaliknya pada tahap pergantian kelamin menjadi jantan jika aktivitas enzim aromatase rendah. Rekayasa proses steroidogenesis pada masa peralihan kelamin tersebut bisa dilakukan misalnya dengan menghambat kerja enzim aromatase maka dapat memaskulinikan ikan hermafrodit protogini (Guiguen *et al.* 2010). Penghambatan kerja enzim aromatase dapat dilakukan dengan induksi fisik seperti suhu (Athauda

*et al.* 2012) maupun senyawa kimiawi steroid dan non steroid (Seralini & Moslemi 2001), sehingga rasio testosteron terhadap estradiol meningkat dan mampu untuk mengarahkan kelamin belut menjadi jantan.

Penghambatan aromatase pernah diteliti pada beberapa jenis ikan menggunakan hormon *aromatase inhibitor* (AI), diantaranya pada ikan gonokoristik melalui pemberian pakan dengan dosis 100 µg/g pakan mampu memaskulinikan ikan *European sea bass* (Navarro-Martin *et al.* 2008), dan ikan atlantik halibut (Babiak *et al.* 2011); pada ikan hermafrodit protogini yaitu ikan *Coryphopterus nicholsii* (Kroon & Liley 2000), *Halichoeres trimaculatus* (Nozu *et al.* 2009), dan *Epinephelus marginatus* (Garcia *et al.* 2013). Pada ikan hermafrodit protandri yaitu *Acanthopagrus schlegelii* yang diberi dosis AI 0,1 µg g<sup>-1</sup> bobot tubuh selama empat minggu dapat mempertahankan kondisi kelamin jantan (Dufour *et al.* 2004). Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pemberian hormon penghambat aromatase (AI) melalui penyuntikan untuk pemaskulinan belut (*Monopterus albus* Zuiew 1793).

## Bahan dan metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September-Desember 2013 di laboratorium kolam percobaan Babakan, Institut Pertanian Bogor. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor perlakuan dengan tiga ulangan individu. Perlakuan yang diberikan yaitu penyuntikan dengan larutan NaCl 0,95% 1 ml sebagai control (A), dan tiga dosis imidazole sebagai hormon penghambat aromatase (AI) yaitu 0,001 mg (B); 0,01 mg (C); 0,1 mg (D) per kilogram bobot tubuh.

Belut yang digunakan rata-rata berukuran 24±2 cm dengan kisaran bobot tubuh 6-14 g. Belut dipelihara dalam akuarium berukuran 80×40×

40 cm<sup>3</sup> dengan ketinggian air 15 cm dan diaerasi. Sebelum diberi perlakuan, belut dipuasakan selama 24 jam kemudian diaklimatisasi pada hari berikutnya selama tujuh hari. Perlakuan hormon penghambat aromatase diberikan melalui penyuntikan secara intramuskular sesuai dengan dosisnya sebanyak lima kali dengan selang waktu pemberian sekali seminggu. Sebelum penyuntikan, ikan dibius terlebih dahulu menggunakan *stabilizer* dengan dosis 1 ml l<sup>-1</sup> air. Selama perlakuan belut diberi pakan berupa cacing tanah (*Lumbricus* sp.) secara *at satiation* sebanyak dua kali sehari. Penyifonan akuarium dilakukan pada pagi dan sore dengan penggantian air sebanyak 30%.

Parameter yang diukur meliputi pertambahan panjang dan bobot tubuh yang diamati setiap minggu selama tujuh minggu masa penelitian, konsentrasi estradiol dan testosteron plasma darah dengan metode ELISA pada minggu ke-0 dan setiap 1 minggu pascapenyuntikan hormon yaitu pada minggu ke-2, 4, dan 6. Setiap dua minggu sekali dilakukan juga pengamatan histologi gonad yang mengacu kepada metode Gunarso (1989) dan penghitungan indeks kematangan gonad (IKG) yang diacu dari metode Beulens *et al.* (1997).

Sebelum pengambilan contoh darah, belut terlebih dahulu dipingsankan. Pengambilan contoh darah dilakukan di bagian pangkal ekor belut dengan menggunakan siring berukuran 1 ml yang telah diberi antikoagulan. Selanjutnya, contoh darah dimasukkan ke dalam tabung dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Plasma yang terbentuk dipindahkan ke dalam tabung baru dan disimpan pada suhu -20°C.

Pada akhir penelitian semua ikan uji di-bedah dan dihitung persentase kelamin jantan, betina atau interseks berdasarkan pengamatan

histologi. Data dianalisis statistik dengan pengujian ANOVA pada selang kepercayaan 95% dan untuk mengevaluasi tingkat perkembangan gonad dilakukan analisis deskriptif.

## Hasil

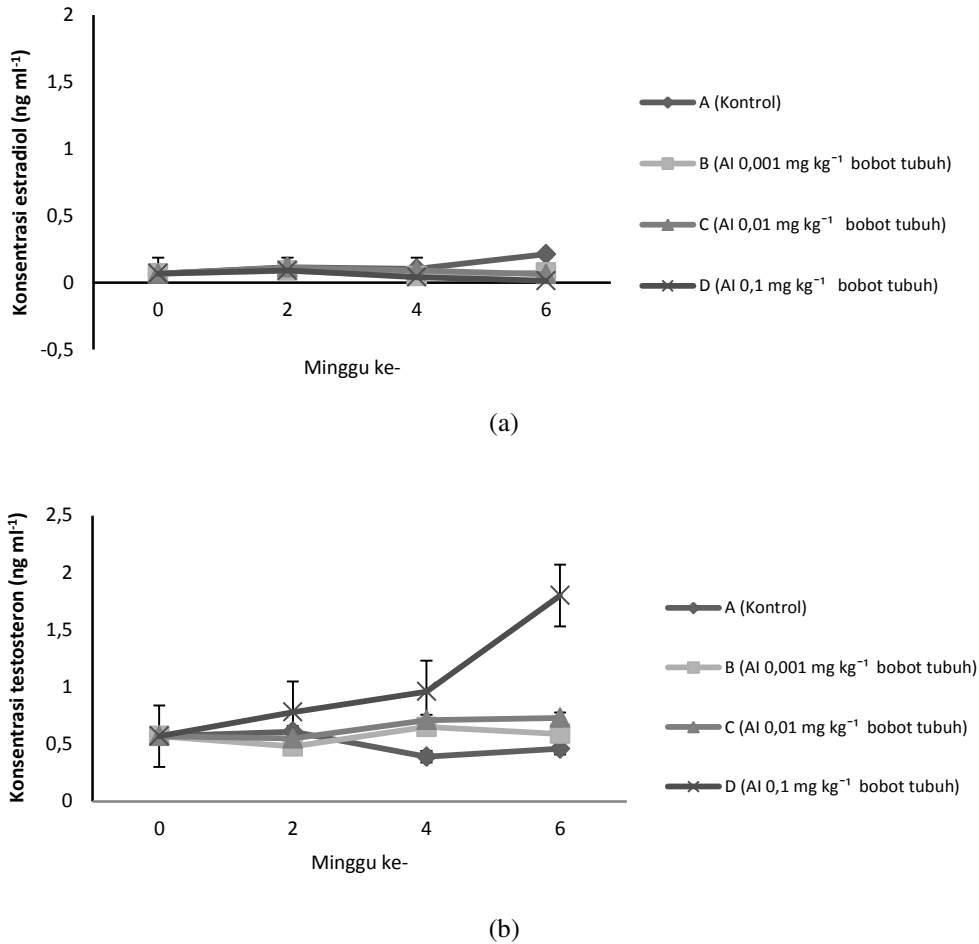
### *Konsentrasi estradiol dan testosteron*

Respon hormonal belut pascapenyuntikan hormon penghambat aromatase ditunjukkan oleh adanya perubahan sekresi hormon steroid yang dihasilkan yaitu konsentrasi estradiol tertekan dan testosteron meningkat dalam plasma darah (Gambar 1).

Konsentrasi estradiol kelompok kontrol (A) yang disuntik NaCl 0,95% menunjukkan peningkatan pesat pada minggu ke-6 dibandingkan sebelumnya (Gambar 1a). Kelompok perlakuan yang diberi penyuntikan AI dengan dosis berbeda menunjukkan konsentrasi estradiol yang tertekan mulai minggu ke-4 dan 6 terutama pada perlakuan C (AI 0,01 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh) dan D (AI 0,1 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh). Konsentrasi estradiol minggu ke-2 pada perlakuan B (AI 0,001 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh) menunjukkan perbedaan nyata terhadap kontrol ( $P < 0,05$ ). Konsentrasi estradiol minggu ke-6 pada semua perlakuan lebih rendah dari kontrol dan secara statistik menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ). Sebaliknya, konsentrasi testosteron kelompok perlakuan D (Gambar 1b) meningkat sampai tiga kali lipat pada minggu ke-6 dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Peningkatan konsentrasi testosteron minggu ke-2 sampai minggu ke-6 menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan dibandingkan dengan kontrol ( $P < 0,05$ ).

### *Histologi gonad dan indeks kematangan gonad*

Analisis histologi perkembangan gonad belut pada pengamatan minggu ke 0-6 setiap kelompok perlakuan disajikan pada Gambar 2.

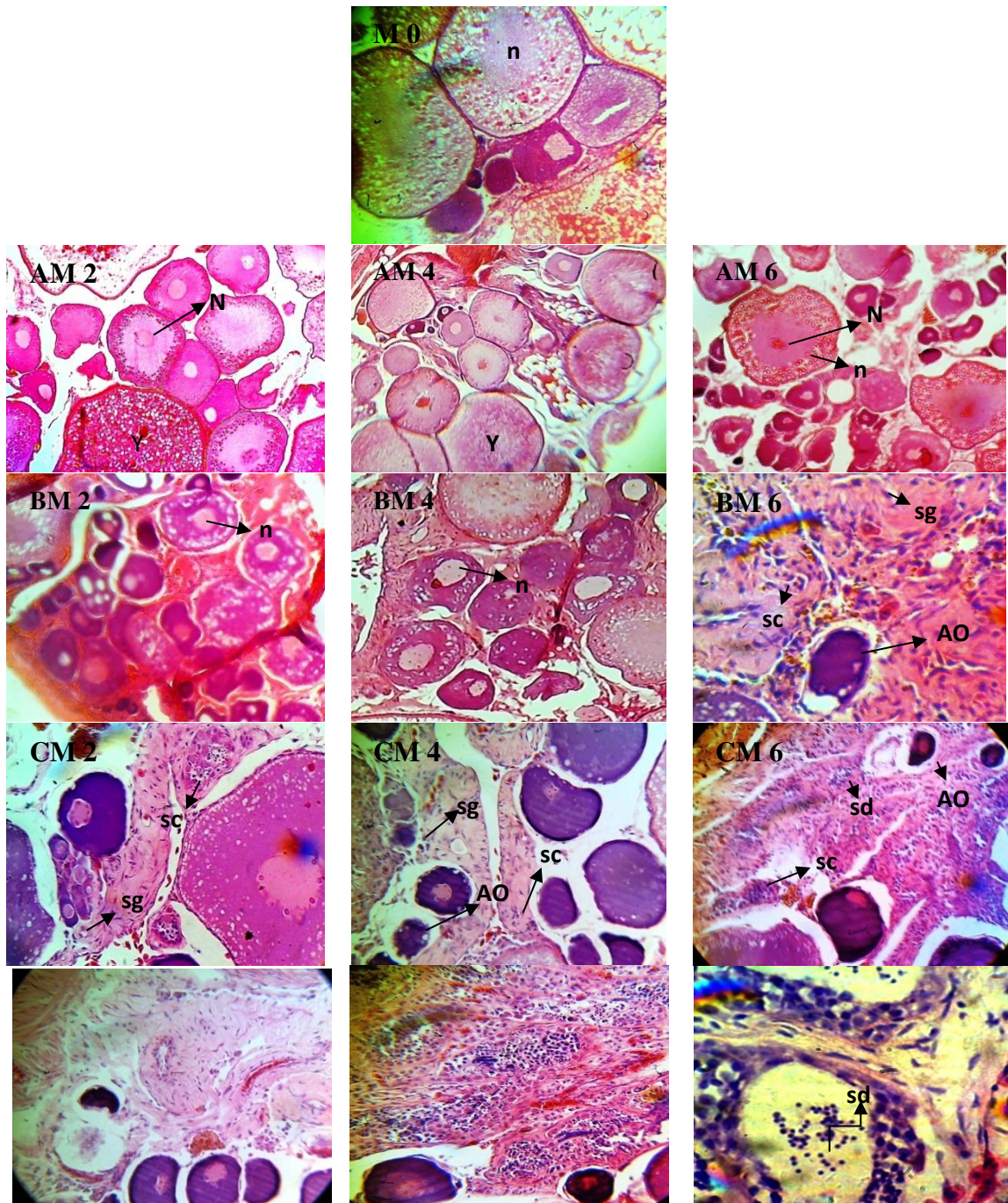


Gambar 1. Konsentrasi estradiol (a) dan testosteron (b) minggu ke 0-6 pada pemaskulinan belut menggunakan hormon penghambat aromatase AI

Pengamatan histologi gonad pada minggu ke-0 sebelum diberikan perlakuan hormon memperlihatkan sebaran oosit dengan beberapa tahapan perkembangannya dan terlihat beberapa telur sudah matang. Selanjutnya, pada pengamatan gonad minggu ke-2 sampai minggu ke-6 kelompok kontrol (A) yang disuntik dengan NaCl 0,95% tidak menunjukkan adanya inisiasi perubahan kelamin. Pada kelompok perlakuan yang diberi penyuntikan hormon AI 0,001 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh (B), inisiasi perubahan kelamin jantan mulai terjadi pada minggu ke-6 dengan ditemukannya spermatogonia dan spermatosit. Pada perlakuan C (AI 0,01 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh) dan D (AI 0,1 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh) terlihat gonad mengalami perkembangan ke arah individu interseksual pada

minggu ke-2 dan ke-4, yaitu telah terdeteksi spermatogonia dan spermatosit berada diantara telur yang mengalami supresi.

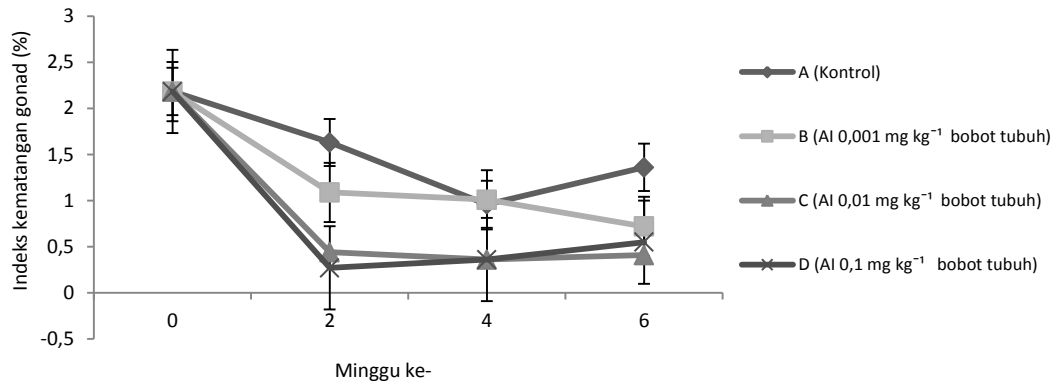
Indeks kematangan gonad (IKG) seluruh perlakuan pada minggu ke-2 menurun, namun minggu ke-6 meningkat kecuali pada perlakuan B (Gambar 3). Perlakuan kontrol NaCl (A) menunjukkan kenaikan IKG yang tertinggi pada minggu ke-6 pascapenyuntikan dibandingkan dengan perlakuan hormon ( $P < 0,05$ ). Pada minggu ke-6 ada individu belut yang berjenis kelamin jantan pada perlakuan D (AI 0,1 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh) dan pada perlakuan C didalam pengamatan gonad menunjukkan adanya dominasi sperma dengan berbagai tahap perkembangan.



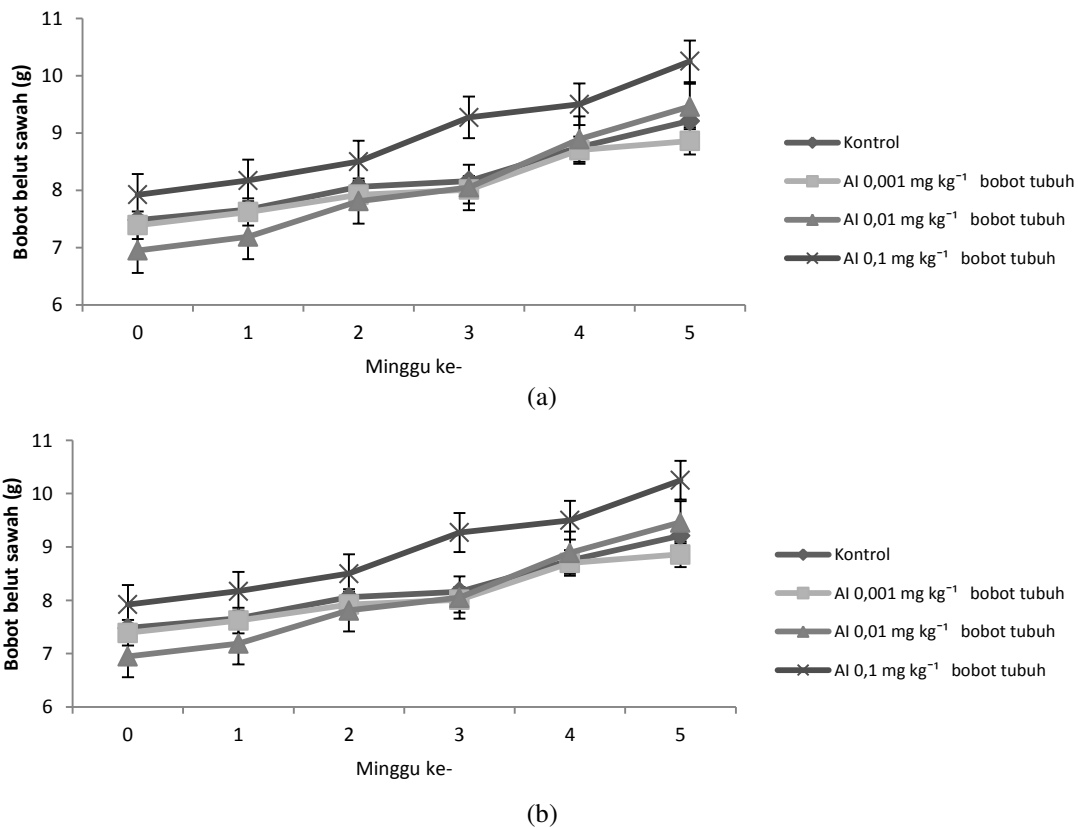
Gambar 2. Histologi gonad belut minggu ke-0, 2, 4, 6 pada pemaskulinan menggunakan hormon penghambat aromatase melalui penyuntikan dengan dosis yang berbeda (M: Minggu ke-; A (NaCl 0,95%) B (AI 0,001 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh), C (AI 0,01 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh), D (AI 0,1 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh); Y (granula kuning telur); n (nukleus); N (nukleolus); AO (atretic oosit); sg (spermatogonia); sc (spermatosit); sd (spermatid); sz (spermatozoa)

Konsentrasi estradiol di dalam plasma darah dan IKG menunjukkan korelasi ( $R^2$ ) sebesar 0,59. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan tanpa penyuntikan hormon AI (kontrol) diperoleh konsentrasi estradiol dan IKG

yang lebih besar dibanding perlakuan dengan penyuntikan hormon AI. Berdasarkan pengamatan histologi gonad (Gambar 2), peningkatan nilai IKG minggu ke-6 pada perlakuan kontrol mengarah pada perkembangan oosit.



Gambar 3. Indeks kematangan gonad belut minggu ke-0, 2, 4, 6 pada pemaskulinan menggunakan hormon penghambat aromatase melalui penyuntikan dengan dosis yang berbeda dibandingkan dengan kontrol (NaCl 0,95%).



Gambar 4. Pertambahan panjang (a) dan bobot (b) belut pada pemaskulinan menggunakan hormon penghambat aromatase melalui penyuntikan dengan dosis yang berbeda dibandingkan dengan kontrol (NaCl 0,95%)

#### Pertambahan bobot dan panjang tubuh

Pertambahan bobot dan panjang tubuh belut pada perlakuan hormon dan kontrol tanpa hormon meningkat selama 6 minggu (Gambar 4)

dan tidak menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan ( $P>0,05$ ). Pertambahan bobot tubuh berkorelasi dengan pertambahan panjang belut ( $R^2=0,74$ ), sedangkan terhadap konsentrasi tes-



tosteron terdapat korelasi berturut-turut sebesar 0,40 dengan bobot dan 0,44 dengan panjang.

#### *Persentase jenis kelamin belut*

Pascapenyuntikan dengan hormon penghambat aromatase pada minggu ke-6 diperoleh individu interseks sebesar 50-85% dan 40% berkelamin jantan hanya pada perlakuan dosis 0,1 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh (D), sedangkan pada perlakuan kontrol tanpa hormon 100% berkelamin betina (Tabel 1).

#### **Pembahasan**

Estradiol pada ikan jantan pada awal spermatogenesis berperan dalam pembaharuan sel spermatogonia dan memacu perkembangan sel-sel germinal (Miura & Miura 2003). Perubahan kelamin pada ikan hermafrodit protogini dikontrol oleh hormon gonadotropin melalui poros hipotalamus, pituitari, dan gonad (Tao *et al.* 1993 dan Garcia *et al.* 2013). Estradiol merupakan produk dari enzim aromatase yang diubah dari testosteron dan berperan dalam pergantian kelamin pada ikan. Pemberian hormon penghambat aromatase (AI) melalui penyuntikan dengan dosis 0,001-0,1 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh pada belut betina yang mempunyai panjang tubuh 24±2cm secara konsisten meningkatkan konsentrasi testosteron setelah 1 minggu pascapenyuntikan pertama hingga penyuntikan kelima. Diduga mekanisme penghambatan kerja aromatase dalam perubahan testosteron menjadi estradiol dimulai setelah penyuntikan pertama menggunakan imidazol sehingga fungsi enzim aromatase tertekan

maka konsentrasi testosteron di gonad meningkat. Peningkatan ini menimbulkan umpan balik yaitu otak merespon dengan menurunkan regulasi enzim aromatase selama fase perubahan kelamin (Server *et al.* 1999 dan Zhang 2009). Selanjutnya, hormon gonadotropin yang dihasilkan di otak (*gonadotropin releasing hormon*, GnRH) akan menginduksi hipofisis untuk mensekresikan *follicle stimulating hormon* (FSH) yang bekerja pada sel sertoli selama proses spermatogenesis dan *luteinizing hormon* (LH) yang bekerja pada sel interstisial untuk proses spermiasi (Tang *et al.* 1974, Tao *et al.* 1993, dan Garcia *et al.* 2013). Peningkatan konsentrasi testosteron akan mengarahkan kelamin belut berubah menjadi interseks atau jantan pascapenyuntikan yang kelima yaitu pada minggu ke-6. Garcia *et al.* (2013) dalam penelitiannya melaporkan bahwa ikan *Lates calcarifer* yang diberi perlakuan AI 100 mg kg<sup>-1</sup> pakan saat musim pemijahan mampu meningkatkan konsentrasi testosteron hingga empat kali lipat dibandingkan kontrol dan berhasil mengarahkan kelamin jantan pada minggu ke-9. Dalam penelitian ini IKG belut betina berukuran ±24 cm sebelum diberikan perlakuan sebesar 2,18±0,6% dan ditemukan adanya telur yang sudah matang pada gonadnya.

Pengamatan IKG pascaperlakuan menunjukkan penurunan yang diduga terjadi penyerapan kembali sel-sel telur (*atresia*) karena telur tersebut tidak mencapai ovulasi. Indeks kematangan gonad pada semua perlakuan mengalami penurunan pascaperlakuan diduga juga terkait dengan proses perubahan kelamin belut dari

Tabel 1. Persentase jenis kelamin belut pada minggu ke-6

Perlakuan	Betina		Inte rseks		Jantan	
	(%)	Panjang tubuh (cm)	(%)	Panjang tubuh (cm)	(%)	Panjang tubuh (cm)
A(Kontrol)	100	24,14±1,14	0	-	0	-
B	50	24,16±0,76	50	23,83±0,28	0	-
C	14,28	24,4	85,72	24,20±1,42	0	-
D	0	-	60	26,27±0,45	40	24±0,70

betina ke arah jantan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Tao *et al.* (1993), Gong *et al.* (2011), dan Garcia *et al.* (2013) bahwa degenerasi gonad dari ovarium mengarah pada perkembangan testis mengakibatkan penurunan bobot gonad dan mengarah pada penurunan IKG. Namun perlakuan AI yang diberikan di luar musim pemijahan tidak mendukung keberhasilan pergantian kelamin jantan pada ikan *E. marginatus* karena konsentrasi testosteron sangat rendah (Garcia *et al.* 2013). Hal ini menunjukkan bahwa produksi hormon yang berkaitan dengan fungsi reproduksi meningkat pada musim pemijahan dan sebaliknya rendah di luar musimnya. Dengan demikian, teknik pemaskulinan ikan secara buatan di luar musim pemijahan membutuhkan optimasi lama waktu perlakuan dan dosis yang harus lebih disesuaikan.

Penghambatan aromatase melalui penambahan hormon steroid eksogen juga dapat dilakukan sehingga bersaing dengan testosteron alami yang ada dan menyebabkan aktivitas aromatase tidak berjalan (Brodie 1991). Fungsi enzim aromatase pada perkembangan gonad ikan menentukan perkembangan ovari jika aktivitas aromatase tinggi dan sebaliknya ikan dengan aktivitas aromatase yang rendah mengarah pada perkembangan testis. Sekresi estradiol pada belut fase betina yaitu di awal hidupnya sangat tinggi, dan jika penghambatan aktivitas aromatase berlangsung maka perkembangan gonad akan beralih ke arah jantan dengan peningkatan produksi testosteron (Chan & Phillips 1969). Pola hormon steroid seks yang demikian terdapat pada ikan hermafrodit protogini seperti ikan *Epinephelus merra* (Alam *et al.* 2006) dan ikan *Coryphopterus nicholsii* (Kroon & Liley 2000).

Persentase jenis kelamin yang dihasilkan pascapenyuntikan hormon penghambat aromatase jenis imidazole pada belut berukuran panjang

±24 cm menunjukkan perbedaan terkait dengan dosis yang diberikan. Pemberian hormon AI dengan dosis 0,001-0,1 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh menunjukkan efektif dalam pengarahannya kelamin jantan pada masa alih kelamin belut yang termasuk hewan hermafrodit protogini dengan keberhasilan 40% jantan dan selebihnya interseks. Pada ikan jantan gonokoristik ataupun hermafrodit konsentrasi estradiol tetap ada meskipun rendah karena fungsi spermatogenesis yang berperan dalam pembaharuan sel spermatogonium dan memacu perkembangan sel-sel germinal (Miura & Miura 2003).

### Simpulan

Induksi hormon penghambat aromatase melalui penyuntikan pada belut dengan dosis 0,1 mg kg<sup>-1</sup> bobot tubuh ikan dapat meningkatkan konsentrasi testosteron plasma darah sebesar tiga kali lipat dibandingkan kontrol dan menghasilkan belut berkelamin jantan yang berukuran panjang tubuh 24±2 cm sebanyak 40%.

### Daftar pustaka

- Affandi R, Yunizar E, Setyo W. 2003. Studi biologi belut (*Monopterus albus*) pada berbagai ketinggian tempat di Kabupaten Subang, Jawa Barat. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 3(2):49-55.
- Alam MA, Bhandari RK, Kobayashi Y, Soyano K, Nakamura S, Soyano K, Nakamura M. 2006. Changes in androgen-producing cell size and circulating 11-ketotestosterone level during female-male sex change of honeycomb grouper *Epinephelus merra*. *Molecular Reproduction Development*, 73(1-4):206-214.
- Athauda S, Trevor A, Rockyde N. 2012. Effect of rearing water temperature on protandrous sex inversion in cultured asian seabass (*Lates calcarifer*). *General and Comparative Endocrinology*, 176(3):416-423.
- Babiak J, Igor B, Solveig van N, Torstein H, Trine H, Birgitta N. 2011. Induced sex reversal using an aromatase inhibitor, fadrozole, in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*).



- poglossus* L.). *Aquaculture*, 324-325:276-280.
- Bahri F. 2000. Studi mengenai aspek biologi ikan belut sawah (*Monopterus albus*) di Kecamatan Parung, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor.
- Brodie A. 1991. Aromatase and its inhibitor. *Journal of Steroid Biochemical, Molecular Biology*, 40(1-3):255-261.
- Beullens K, Eding AH, Gilson P, Ollevier F, Komen J, Richter CJJ. 1997. Gonadal differentiation, intersexuality and sex ratios of European eel (*Anguilla anguilla* L.) maintained in captivity. *Aquaculture*, 153(1-2): 135-150.
- Chan STH, Phillips JG. 1969. The Biosynthesis of steroids by the gonads of the ricefield eel *Monopterus albus* at various phases during natural sexreversal. *General and Comparative Endocrinology*, 12(3):619-636.
- Direktorat Jenderal PPHP (Pengolahan dan Pemasaran Hasil Perikanan). 2012. *Statistik ekspor hasil perikanan* 2011. Kementerian Kelautan dan Perikanan, Jakarta.
- Dufour S, Sun TL, Crishtoper HK, Cheng K, Lin H, Jacquez B. 2004. Effects induction of sex steroid, aromatase inhibitors and anti-estrogens in protandrous black porgy *Acanthopagrus schlegelii* Bleeker. *Zoology Study*, 29(9):173-179.
- Garcia CEO, Bruno CA, Paulo HM, Amanda MN, Jandir ARF, Andreone TM, Ricardo AZ, Lucile MFW, Renata GM. 2013. Involvement of pituitary gonadotropins, gonadal steroids and breeding season in sex change of protogynous dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Teleostei: Serranidae), induced by a non-steroidal aromatase inhibitor. *General and Comparative Endocrinology*, 192(2):170-180.
- Gong S, Guobin Z, Lei Z, Yongchao Y, Hanwen Y. 2011. Effects of estradiol valerate on steroid hormones and sexreversal of female rice field eel, *Monopterus albus* (Zuiew). *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(11):96-104.
- Guiguen Y, Alexis F, Francesc P, Ching-Fong C. 2010. Ovarian aromatase and estrogens: A pivotal role for gonadal sex differentiation and sex change in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3):352-366.
- Gunarso W. 1989. *Mikroteknik*. PAU Ilmu Hayat. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 112 hlm.
- Miura T, Miura CI. 2003. Molecular control mechanisms of fish spermatogenesis. *Fish Physiology Biochemistry*, 28:181-186.
- Kroon FJ, Liley NR. 2000. The role of steroid hormones in protogynous sex change in the blackeye goby, *Coryphopterus nicholsii*. *General and Comparative Endocrinology*, 118(2):273-283.
- Navarro-Martin L, Mercedes B, Francesc P. 2008. Masculinization of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) by treatment with an androgen or aromatase inhibitor involves different gene expression and has distinct lasting effects on maturation. *General and Comparative Endocrinology*, 160(1):3-11.
- Nozu R, Kojima Y, Nakamura M. 2009. Short term treatment with aromatase inhibitor induces sex change in the protogynous wrasse, *Halichoeres trimaculatus*. *General Comparative Endocrinology*, 161(3):360-364.
- Seralini GE, Moslemi S. 2001. Aromatase inhibitors: past, present and future. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 178(1-2):117-131.
- Server DM, Halliday T, Waight V, Brown J, Davies HA, Moriarty EC. 1999. Sperm storage in female of the smooth new (*Triturus vulgaris* L.): ultrastructure of the spermathecal during the breeding season. *Journal of Experimental Zoology*, 283 (1): 51-70.
- Tang F, Chan STH, Lofts B. 1974. Effect of steroid hormones on the process of natural sex reversal in the rice-field eel, *Monopterus albus* (Zuiew). *General and Comparative Endocrinology*, 24(3):227-241.
- Tao YX, Hao-Ren L, Glen VDK, Richard EP. 1993. Hormonal induction of precocious sex reversal in the ricefield eel, *Monopterus albus*. *Aquaculture*, 118(1-2):131-140.
- Zhang Y, Weimin Z, Huiyi Y, Wenliang Z, Chaoqun H, Lihong Z. 2008. Two cytochrome P450 aromatase genes in the hermaphrodite rice field eel *Monopterus albus* : mRNA expression during ovarian development and sex change. *Journal of Endocrinology*, 199(8):317-331.